

• 临床检验研究 •

乙二胺四乙酸三钾导致血小板假性减少症的认识与分析

张 静, 韩志梅

(辽宁省大连市友谊医院检验科 116000)

摘 要:目的 探讨乙二胺四乙酸三钾(EDTA-K₃)引起血小板(PLT)聚集原因以及采取的相应措施。方法 对 3 例典型 EDTA 依赖性血小板假性减少(PTCP)患者采用 XE-2100 血液分析仪,观察不同抗凝剂(EDTA-K₃、枸橼酸钠及肝素锂)在不同时间段测定血小板的变化。结果 (1)3 例典型 EDTA-PTCP 患者均显示在仪器旁,即刻检测血小板 3 种抗凝剂均可,且结果相近,超过 30 min 后,EDTA-K₃ 抗凝下降明显,而枸橼酸钠与肝素锂抗凝血对血小板也有不同程度的影响。(2)仪器异常直方图和散点图提示血小板的异常凝集。(3)新鲜血涂片与 EDTA-K₃ 抗凝血对比显示血小板的大片聚集。结论 EDTA-PTCP 患者采取机前即刻检测结果比较可靠,更换枸橼酸钠与肝素锂抗凝剂的方法不作首选。结合临床症状、血常规直方图与散点图及周围血涂片,避免对 EDTA-PTCP 患者的误诊误治。

关键词:依地酸; 血小板计数; 血液分析仪; 假性血小板减少症

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.07.024

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)07-0776-02

The analysis and study pseudothrombocytopenia caused by EDTA-K₃

Zhang Jing, Han Zhimei

(Department of Clinical Laboratory of Dalian Friendship Hospital)

Abstract: **Objective** Explore EDTA-K₃ cause PLT aggregation causes and take appropriate measures and correction measures. **Methods** Three cases of typical pseudo-reduction of EDTA-dependent thrombocytopenia in patients with XE-2100 hematology analyzer, observation the effects of different anticoagulants(EDTA-K₃, sodium citrate and heparin) in different time periods measured changes in platelet. **Results** (1) The 3 typical model EDTA-PTCP sufferer all show at the side of the instrument, instant examination blood platelets three kinds of anticoagulants all can, and result close by, over 30 min after, the EDTA-K₃ anticoagulants descend obvious, but the sodium citrate and lithium heparin anticoagulant on platelet also have different degrees of impact. (2) Instrument abnormality spread some diagram hint blood platelets of abnormality solidify. (3) Fresh blood smear with anticoagulant EDTA-K₃ comparison showed large platelet aggregation. **Conclusion** EDTA-PTCP patients with immediate test results before taking machine more reliable, replacement lithium heparin anticoagulant citrate method, difficult choice, combined with clinical symptoms and routine blood test scatter and peripheral blood smear, to avoid patients with EDTA-PTCP of misdiagnosis and mistreatment.

Key words: edetic acid; platelet count; hematology analyzer; pseudothrombocytopenia

用乙二胺四乙酸(EDTA)盐作为血细胞分析的抗凝剂是国际血液标准委员会(ICSH)在 1993 年确定,并被广泛使用,但 EDTA 盐有时能够引起血小板发生聚集,出现依赖性假性血小板减少,即 EDTA 依赖性血小板假性减少症(EDTA-dependent pseudothrombocytopenia, PTCP)。现将 3 例 EDTA 依赖性 PTCP 患者的发现过程及采用不同抗凝剂对血小板进行测定与分析,总结纠正手段,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例 1,男,28 岁,以“发作性左腰疼”1 周主诉入院泌尿外科,诊断“左输尿管结石”。主诉:连续多年体检,PLT 减少,但无出血症状,无瘀点、瘀斑、出血等血小板减少症状,入院后血 PLT 为 $15 \times 10^9/L$,次日转入血液科并做相关检查,PLT 多次复查为 $22 \times 10^9/L$ 、 $18 \times 10^9/L$,且血涂片片尾处可见大量血小板聚集,骨髓穿刺涂片也见骨髓增生活跃,巨核细胞 65 个,其中产板巨核细胞 41 个,血小板散在分布,小簇易见,患者在实验室仪器旁采血,无任何抗凝剂即刻测定,EDTA-K₃ 抗凝、枸橼酸钠抗凝及肝素锂 3 种抗凝剂分别于 5、30、60、120 min 进行检测,经结合临床鉴别确认为 EDTA 依赖性 PTCP,复查血小板计数后正常出院。

病例 2,男,74 岁,以“冠心病/心率失常,室早”为初诊入院心内科,入院后血常规检查 PLT 为 $14 \times 10^9/L$,但临床查体无出血症状,无瘀点、瘀斑等血小板减少症,出凝血时检查正常,再次血常规检测 PLT 为 $22 \times 10^9/L$,且仪器提示血小板凝

集,血涂片尾处可见大片聚集,患者在实验室仪器旁采血,采用“病例 1”方法,复检血小板确诊为 EDTA 依赖性 PTCP。

病例 3,男,64 岁,以“左肾癌术后,高血压病Ⅲ级,慢性肾功能衰竭Ⅲ期”为初诊入院泌尿内科。主诉:左肾癌术后,全身乏力 2 个月。入院后检查,肝功能正常,甲状腺功能正常,出凝血时检查正常,BUN 为 5.87 mmol/L ,Cr 为 $123.6 \mu\text{mol/L}$,UA 为 $492 \mu\text{mol/L}$ 。血常规两次显示血小板减少,分别为 $26 \times 10^9/L$ 、 $28 \times 10^9/L$,但临床查体无出血症状,无瘀点、瘀斑。血常规中血小板散点图异常,提示“PLT clumps”,血涂片尾处可见大片聚集,患者在实验室仪器旁采血,采用“病例 1”方法,复检血小板确诊为 EDTA 依赖性 PTCP。

1.2 方法

1.2.1 仪器法 采静脉血,分别置于无任何抗凝剂管、EDTA-K₃ 抗凝管、枸橼酸抗凝管、肝素抗凝管内,5、30、60、120 min 用 sysmex-2100 型分析仪检测。

1.2.2 血涂片法 EDTA-K₃ 抗凝血(30、120 min),患者新鲜耳血涂片各一张自然晾干,用瑞-姬氏染色,显微镜观察血小板聚集情况。

1.2.3 骨髓涂片法 取材良好,涂片厚薄适宜的骨髓片两张,用瑞-姬氏染色,观察血小板及巨核细胞数量形态及产板情况。

2 结 果

2.1 患者在仪器旁采血即可检测(5 min),采用无任何抗凝剂、EDTA-K₃、枸橼酸钠、肝素抗凝检测无较大差别。但在 30

min 后,EDTA-K₃ 抗凝管有明显减少。30、60、120 min 后枸橼酸钠、肝素抗凝管有不同程度的变化。此外,“病例 1”还可见

EDTA-K₃ 和枸橼酸钠同时使该患者血小板聚集而数量减少,见表 1。

表 1 仪器法不同时间检测 3 种抗凝血的血小板结果比较(×10⁹/L)

时间(min)	不加任何抗凝剂			EDTA-K ₃			枸橼酸钠			肝素		
	病例 1	病例 2	病例 3	病例 1	病例 2	病例 3	病例 1	病例 2	病例 3	病例 1	病例 2	病例 3
5	221	164	135	228	159	138	217	160	133	216	155	131
30	—	—	—	34	30	71	158	155	121	198	132	98
60	—	—	—	20	18	32	71	147	115	165	123	85
120	—	—	—	15	14	28	45	149	124	175	125	89

—:表示无数据。

2.2 血常规异常直方图和散点图 在 sysmex-2100 仪器上,病例 1、2、3 的 EDTA-K₃ 抗凝血 30、60、120 min 的血小板直方图和散点图均有异常提示。

2.3 外周血涂片 新鲜外周血涂片可见血小板散在或小簇易见。而 EDTA-K₃ 30 min 时涂片可见尾部血小板簇状聚集,片尾部呈小片状聚集;120 min 后涂片血小板在片尾部均可见呈大片状聚集。

2.4 骨髓涂片 骨髓涂片中巨核细胞数量正常,产板正常,血小板散在成簇易见。

3 讨 论

EDTA 依赖性血小板减少(PTCP)首先于 1969 年被 Gowland 等^[1]报道。国外报道其发生的概率为 0.07%~1%,国内报道为 0.09%~0.2%^[2]。EDTA 依赖性假性血小板减少是一种体外现象,可发生于健康群体和各种患者,是由于抗血小板自身抗体在 EDTA 存在条件下,引起血小板聚集。这些抗体可以是免疫球蛋白家族的 IgG、IgM 或 IgA,其直接针对隐藏的抗原决定簇,这些抗原决定簇平时是在血小板膜糖蛋白(Gp)Ⅱb/Ⅲa 人凝血因子 I X 中隐藏。由于 Gp Ⅱb/Ⅲa 需要在钙离子存在下保持其二聚体结构,EDTA 可以通过它与钙离子的螯合作用分离 Gp Ⅱb/Ⅲa,导致 Gp Ⅱb 表簇暴露。这种 Gp Ⅱb/Ⅲa 构想的改变也与温度有关^[3]。在温室条件下出现血小板聚集现象,而在 37℃ 则无此现象发生^[4]。Kunicki 等^[5]证实了与 EDTA-PTCP 相关的自身抗体的原型。Bizzaro 和 Brandalise^[6]发现 EDTA-PTCP 与任何特殊的病程或者应用特殊药物无关,并且证实健康群体和各种不同疾病的患者都存在。

血小板是临床最常用和观察较重要的指标之一,由于 PTCP 的临床发生率很低,不为大多数检验工作者和临床医师所熟悉而常常被忽视,进而导致临床无故增加其他不必要的辅助检查,“病例 1”患者多次门诊体检诊断血小板减少,进而由泌尿外科转入血液科并进行了骨髓穿刺检查,本组认为若临床检验工作者能够多注意血常规散点图及外周血涂片的变化,像骨髓穿刺这样的检查是可以避免的,资料显示有的患者甚至被误诊为特发性血小板减少性紫癜,给予输注血小板及激素等治疗,导致了误诊误治,甚至引发医疗纠纷。因此,提高检验人员素质及责任心,加强与临床的沟通与联系,加深对 EDTA-PTCP 疾病的认识,采取有效的措施与手段,减少误诊误治的发生是检验人员与临床医师共同的目标和责任。

本组在不同抗凝剂对比测试中发现,枸橼酸钠和肝素锂对血小板测定也存在一定的影响。枸橼酸钠是一种钙的螯合物,呈碱性,可与钙离子形成可溶性螯合物,其抗凝性弱,易使血小板聚集而致总数减少^[7]。肝素锂抗凝,主要作用是抑制凝血活酶与凝血酶形成,并激活纤溶酶^[8]。但是由于肝素能引起血小

板聚集及肿胀或过量肝素导致血小板破坏,在计数时,由于其体积较大,会被误认为其他细胞。“病例 1”显示枸橼酸钠也可导致血小板聚集,这与刘立军^[9]的报道相同。因此,本组认为在发生 EDTA-PTCP 时,更换枸橼酸钠和肝素锂等抗凝剂的方法应用于血小板的计数不是首选,这与某些相关报道不同^[10-11]。

在实际操作中,无论门诊还是住院患者往往不能在 10 min 内完成血常规的测定,因此建议临床上对无任何出血症状,无瘀点、瘀斑等血小板减少体征的患者,采取以下应对措施:(1)观察血常规散点图,有 PLT 凝集提示。(2)血常规做涂片染色,片尾部可见大量血小板聚集。(3)疑似 PTCP 患者可在仪器旁,即刻采血直接做血小板计数。

参考文献

[1] Gowland E,Kay HE,Spillman JC,et al. Agglutination of platelets by a serum factor in the presence of EDTA[J]. J Clin Pathol, 1969,22(4):460-464.

[2] 宓庆梅,施巍宇,郝梅莹,等. EDTA 依赖性假性血小板减少症 1 例[J]. 中华检验医学杂志,2004,27(10):719.

[3] Fiorin F,Steffan A,Pradella P,et al. IgG Platelet antibody in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia bind to platelet membtane glycoprotein Ⅱ b[J]. Am J Clin Pathol,1998,110(17):178-183.

[4] De Caterina M,Fratellanza G. Evidence of a cold immunoglobulin M automantibody against 78-kD platelet glycoprotein in a case of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia[J]. Am J Clin Pathol, 1993,99(2):163-167.

[5] Kunicki TJ,Plow EF,Kekomaki R,et al. Human monoclonal autoantibody 2E7 is specific for a peptide sequence of platelet glycoprotein Ⅱ b. Localization of the epitope to Ⅱ b231-238 with an immunodominant Trp235[J]. J Autoimmun,1991,4(3):415-431.

[6] Bizzaro N,Brandalise M. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. Association with antiplatelet and antiphospholipid antibodies [J]. Am J Clin Pathol,1995,103(1):103-107.

[7] 李晖. 抗凝剂对血小板保存情况分析[J]. 广西医科大学学报, 1996,13(3):45-46.

[8] 刘健,柴玉霞. 抗凝剂对血小板及其参数检测结果的影响分析[J]. 国际医学卫生导报,2004,10(8):64-65.

[9] 刘立军. 枸橼酸钠、EDTA 依赖性假性血小板减少 1 例[J]. 中国热带医学,2006,6(12):2216.

[10] 孟晓玲,夏世军. 不同抗凝剂对检测血小板的影响[J]. 临床误诊误治,2007,20(6):43.

[11] 张辉. 加强对乙二胺四乙酸依赖性血小板减少症的认识及对策[J]. 检验医学与临床,2008,5(5):316-317.